

FLUORESZENZMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG MIT
PSEUDOISOZYANINCHLORID VON LEUKOZYTEN BEI
PATIENTEN MIT ERKRANKUNGEN DES
LEUKOPOETISCHEN SYSTEMS

MARTIN RÜTER

Diss
München
1954



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554007_0068

FLUORESZENZMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG MIT
PSEUDOISOZYANINCHLORID VON LEUKOZYTEN BEI
PATIENTEN MIT ERKRANKUNGEN DES
LEUKOPOETISCHEN SYSTEMS

MARTIN RÜTER

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München

Vorstand: Professor Dr. H. Spiess

Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung mit
Pseudoisozyaninchlorid von Leukozyten bei
Patienten mit Erkrankungen des
leukopoetischen Systems

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Martin Rüter

aus

Paderborn

1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H. J. Suschke

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Spiess

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 27.3. 1984

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
1. Material und Methode	3
2. Ergebnisse	5
2.1. Beurteilung von Blut gesunder Menschen	5
2.2. Beurteilung von Blut bei Patienten mit hämатologischen Erkrankungen	7
3. Diskussion	18
3.1. Klinische Wertigkeit	18
3.2. Zusammenfassung	22
3.3. Schlußfolgerungen	24
Literaturverzeichnis	25

In der Diagnostik leukämischer Erkrankungen stehen ausreichend viele Methoden zur Verfügung, um diese Krankheiten hinreichend differenzieren zu können. Dabei stehen der Blutaussstrich nach Pappenheim und einige zytochemische Reaktionen im Vordergrund. Nun wurde zufällig gefunden, daß sich mit dem kationischen Fluoreszenzfarbstoff Pseudoisocyaninchlorid in menschlichen Blutzellen bestimmte Strukturen darstellen lassen. Dieser Farbstoff, im weiteren PIC genannt, lagert sich an polyanionische organische Matrizen an. (2, 5, 9)

Untersucht man nun fluoreszenzmikroskopisch mit PIC gefärbtes Blut, wobei die Methode unten ausführlich beschrieben wird, so zeigen sich die Leukozyten wie folgt: Granulozyten weisen körnig oder vereinzelt gelbe bis grüne Granula auf. Eosinophile sind durch reichlich schwarze Vakuolen charakterisiert, während Lymphozyten und Monocyten viele gelbe, grüne oder gelblich-grüne Granula zeigen. Diese Befunde ließen sich nur über die Bindung des Farbstoffes an die Aldehydgruppen, gesättigte oder ungesättigte Doppelbindungen, Amino- und Sulfhydrylgruppen (10) geschlossen wurden Patienten mit Virusinfektionen.

Prinzipiell kann der Farbstoff PIC in geschlossenen tetra- oder pentacyclischen Strukturen verankert sein: 1. Nucleinsäuren, 2. Glykosaminoglykane, 3. Nucleoside, 4. Isotriole und 5. Phosphatgruppen von Phospholipiden. In die Gruppe der in Frage kommenden Moleküle sollte ein Modell gehören, welches entsprechende Reaktionsversuche mit UV- und Fluoreszenzspektroskopie und verschiedenen Fluoreszenzspektroskopischen Methoden, die zur Untersuchung der Granulation führten. Erst nach Behandlung des Blutes mit

Phospholipase C sowie mit Fettlösungsmitteln wie Chloroform oder Benzol kam es zu einer vollständigen Degranulierung der Lymphocyten und Monozyten, so daß mit einiger Wahrscheinlichkeit Phosphatgruppen von Phospholipiden dem Farbstoff als Matrix dienen könnten. (3, 6, 8)

Bei Untersuchungen an Personen mit hämatologischen Systemerkrankungen fand man allerdings die Anzahl der granulierten mononucleären Zellen vermindert. (8) Die Klärung der Frage, inwieweit sich dieses Phänomen zur klinischen Beurteilung von Leukosen eignet, soll Gegenstand dieser Arbeit sein. Aussetzlich sollen einige Knochenmarksausstriche nach Färbung mit HIC untersucht werden.

1. Material und Methode

Der Lösung wurden sowohl vor- als auch nachfolgend 10 ml 10% Röhrenchen überführt und mit der gleichen Menge 5×10^{-4} M PIC inkubiert. Nach 24 h wurde nach obigem Verfahren ein Extrakt hergestellt. Die Fluoreszenzspektroskopische Untersuchung erfolgte binnen 48 h.

Der bei den Versuchen verwendete Farbstoff pseudoisocyanin-
chlorid bindet sich als Kation an anionische Gruppen. Bei der
Anlagerung an Polyanionen, wie Nukleinsäuren, Glykosaminogly-
kane, bildet HQ sogenannte J-Aggregate, d.h., durch eine Ma-
trizenfunktion der Polyanionen aggregiert der Farbstoff zu
Polymeren, was sich in einer Verschiebung des längstwelligsten
Elektronenüberganges zu größeren Wellenlängen äußert. (5) Diese
Eigenschaft ist die Ursache für die selektive Darstellung die-
ser Polyanionen. Dabei müssen die Abstände in einem bestimmten

Berechnung über die Gegenstrahlensysteme (s. Skizze) der Fokussierung während des Abstrahls von der Rückwandfläche. Gemäß der oben beschriebenen Methode wurde im neutralen Bereich gearbeitet.

2. Ergebnisse

2.1. Beurteilung von Blut gesunder Menschen

Bei der Färbung des EDTA-Blutes mit einer FIC-Lösung findet man, verglichen mit der Färbung nach Pappenheim, unerkannte Verhältnisse vor. Die Granulozyten weisen in der hier beschriebenen Fluoreszenzfärbung keine, oder nur ganz vereinzelt Granula (1-5) auf. Der Zellkern ist scharf vom Zytoplasma abgesetzt und fluoresziert von Grün bis Gelb. Im Zytoplasma erscheinen oft unstrukturierte, nur schwach gelblich fluoreszierende Strukturen, die keine Ähnlichkeit mit Granula aufweisen. Die Untergrundfluoreszenz des Zytoplasmas variiert zwischen grauen und grünlichen Farbtönen.

Während die Untergrundfluoreszenz der neutrophilen Granulozyten homogen ist, findet sich bei den eosinophilen eine reichliche Vacuolisierung. Diese Vacuolen entsprechen in Größe, Form und Zahl den roten Granula der Pappenheimfärbung. Zwischen diesen, wie in das Zytoplasma eingestanzten schwarzen Vacuolen sind immer einige gelbe und grüne Granula nachweisbar. Der Zellkern der eosinophilen Granulozyten fluoresziert wie der der neutrophilen grün bis gelb.

Im Gegensatz dazu sind die basophilen Granulozyten dicht mit kräftig grün fluoreszierenden Granula versehen.

Lymphozyten besitzen einen grünen bis gelben Kern, der in wenigen Fällen auch braun ist. Er ist scharf vom schwach grünlich fluoreszierenden Zytoplasma abgesetzt. Über das Zytoplasma verteilt lassen sich in jeder Zelle grüne und gelbe Granula

beschreiben, die in ihrer Größe den bei der raschen Färbung in Granulozyten zu findenden Granula entsprechen ($0,2 - 0,5 \mu$).

Die Granulierung und färbereisenden Eigenschaften gesunder Monozyten entsprechen der der Lymphozyten.

Thrombozyten zeichnen sich beim Gesunden durch eine gelblich grüne Untergrundfluoreszenz aus, die nirgendwo durch nicht fluoreszierende Stellen unterbrochen wird. Regelmäßig lassen sich in dünn ausgestrichenen Arealen Pseudopodien nachweisen.

Erythrozyten weisen keine Fluoreszenz auf, was durch den Fluoreszenzlöschenden Eisengehalt dieser Zellen bedingt ist.

Zur Entfettung inkubiert man die Blutproben vor der Färbung mit Chloroform. Im Blutaussstrich findet man jetzt zahlreiche Zelltrümmer. Die Lipide der Zellmembran werden durch Chloroform ausgelöst und die Zellen verlieren teilweise ihre typische Struktur. Die noch in ausreichender Anzahl vorhandenen Zellen haben folgendes Aussehen:

Die Granulozyten sind jetzt dicht mit kräftig gelb bis orange-gelb fluoreszierenden Granula übersät, die sich auch über den Kern projizieren. Die Fluoreszenz dieser Granula ist im Gegensatz zu den oben beschriebenen Granula lichtresistent, das heißt, sie läßt nach längerem Lichteinfall in ihrer Intensität nicht nach. Der Kern selbst ist gut abgegrenzt und fluoresziert gelb-grünlich.

Bei Monozyten ist kein einheitliches Bild zu beobachten: Zum größten Teil zeigt ihr Zytoplasma eine gelb-grüne Untergrundfluoreszenz und es lassen sich keine Granula mehr nachweisen; aber es haben sich auch Zellen finden lassen, deren Zytoplasma

einige gelb erscheinende Granula beinhaltete.

Das Cytoplasma der Lymphozyten zeigt bei 411nm. bläulich-grünliche
reszenz und ist regelmäßig frei von Granula. Der Kern erscheint
jetzt grau-gelblich.

3.2. Beurteilung von Blut aus Leukämie- und Lymphomkranken Erkrankungen

Beurteilung von Blutbildern bei chronisch lymphatischer
Leukämie (CLL)

Da es nicht immer möglich war die Zellen im Ausstrich eindeutig
zu differenzieren, wird anstatt des Prozentanteiles der gr-
nulierten bzw. ungranulierten Lymphozyten der aus rechenst-
ären Zellen angegeben.

Standardfärbung: Im Blutausstrich dieser Patienten besitzen
nicht alle Lymphozyten die oben beschriebenen Granula im Cyto-
plasma, sondern bieten teilweise ein sich von der Hintergrund-
fluoreszenz des Plasmas gut abgrenzenden, grün-gelb fluores-
zierenden Kern. Je nach Krankheitsstadium und Therapie können
sich die Zellen abnorm vergrößern oder eine unregelmäßige Ge-
stalt annehmen. Bei zytostatischer Therapie finden sich auch
vermehrt Zelltrümmer.

Färbung nach Entfettung: Jetzt zeigen sich alle Lymphozyten
ausnahmslos ohne Granula. Im Folgenden sind die einzelnen Fä-
rbe dargestellt:

1) K.M. 74w. Vor zwei Jahren wurde eine CLL diagnostiziert.

Die Behandlung erfolgte mit Vincristin, Prednison und 6-MP.

Fatientin an D. mellitus, einer Hyperthyreose und an einer Hypertonie. Im PIC-gefärbten Ausstrich fanden sich 100% granulisierte mononukleäre Zellen.

2) G.J. 60w. Seit 1970 ist eine CLL bekannt. Therapie mit 6-MP, Vincristin und Prednison. Der Patient wurde zwei Hospitalisierungen wegen Infektionen. Die Therapie kontrolliert. Im PIC-gefärbten Ausstrich sind 70% der mononukleären Zellen granuliert.

3) S.H. 78m. Seit 1970 ist eine CLL bekannt, in den letzten beiden Jahren wurde der Patient alle 14 Tage mit 100mg Prednison behandelt. Im PIC-gefärbten Ausstrich sind 62% der mononukleären Zellen granuliert.

4) H.C. 64m. Seit 1975 ist eine CLL bekannt, im Verlauf Behandlung mit Leukeran und Ultralan. Zuletzt Therapie mit Interferon. Im PIC-gefärbten Ausstrich sind 69% der mononukleären Zellen granuliert.

5) B.L. 53w. Vor einem Jahr wurde die CLL diagnostiziert und durch eine Splenektomie behandelt. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden sich 0% granulisierte mononukleäre Zellen.

6) H.R. 75m. Seit 1978 ist eine CLL bekannt. Therapie durch Milzbestrahlung. Der Patient verstarb 1981. Im PIC-gefärbten

Ausstrich finden sich 0% granulierte mononukleäre Zellen

7) A.N. 71m. Seit 1976 ist eine CLL bekannt. Im Verlauf Therapie mit Leukeran und Ultralan, zuletzt durch Milzbestrahlung. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden sich 50% granulierte mononukleäre Zellen.

Tabelle 1 Granulierte mononukleäre Zellen in Prozent bei Patienten mit chronisch lymphatischer Leukämie

Fat. Nr.	Alter Geschlecht	Therapie	Granulierte, mononukleäre Zellen in %
1	74, w	Ultralan	100
2	60, m	-	99
3	78, m	Leukeran	62
4	61, m	Interferon	69
5	53, w	Splenektomie	0
6	75, m	Milzbestrahl.	0
7	71, m	Milzbestrahl.	50

therapie behandelt. Zum Zeitpunkt der Untersuchung wurden 11000 Leukozyten und 280 000 Thrombozyten gezählt. Im PIC-gefärbten Ausstrich zeigten sich: 6 Segmentkernige, 3 Stabkernige, 1 ungran. Metamyelozyt, 3 Eosinophile, 2 Monozyten, 85 Lymphozyten.

10) F.A. 33m. Bei diesem Patienten ist die CML seit 3 Jahren bekannt und wurde zwischenzeitlich mit Myleran behandelt. Zum Zeitpunkt der Untersuchung bekam der Patient keine Medikamente, es wurden 43000 Leukozyten gezählt. Im PIC-gefärbten Ausstrich fanden sich: 21 Segmentkernige, 34 Stabkernige, 12 Metamyelozyten, 11 Myelozyten, 2 Promyelozyten, 6 granuliert und 4 ungranulierte Myeloblasten, 3 Monozyten, 7 Lymphozyten.

11) F.U. 45m. Seit zwei Jahren ist eine CML bekannt, zum Zeitpunkt der Untersuchung bekam der Patient kein Medikamente, es wurden 22000 Leukozyten gezählt. Im PIC-gefärbten Ausstrich fanden sich: 35 Segmentkernige, 16 Stabkernige, 7 Metamyelozyten, 28 Myelozyten, 10 Promyelozyten, 3 ungranulierte Myeloblasten, 1 Lymphozyt.

12) K.F. 35m. Seit zwei Jahren ist eine CML bekannt, die Krankheit wird bis jetzt mit Myleran behandelt. Es fanden sich zum Zeitpunkt der Untersuchung 40000 Leukozyten. Der PIC-gefärbte Ausstrich zeigt: 11 Segmentkernige, 25 Stabkernige, 30 Metamyelozyten, 17 Myelozyten, 6 Promyelozyten, 3 Eosinophile, 8 Lymphozyten. Bei diesem Patienten wurde auch noch eine PIC-

Färbung nach Entfettung angefertigt und in diesem Ausstrich zeigten sich die Granulozyten und ihre Vorstufen sämtlich granuliert.

Beurteilung von Blut bei akuter myeloischer Leukämie (AML)

Die Zellen im Blutausstrich dieser Patienten gleichen in ihrem färberischen Verhalten grundsätzlich denen in den oben beschriebenen Präparaten, wobei ihre typische Morphologie erhalten bleibt. Im Gegensatz zur CML beinhaltet das Zytoplasma der Myeloblasten bei Färbung nach Entfettung jetzt nur noch sehr wenige Granula. Die Ausstriche im einzelnen:

13) F.J. 17m. In diesem Jahr diagnostizierte AML. Zur Zeit der Untersuchung Zytostase mit ET-18-OCH₃. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden sich 75 granulierte und 25 ungranulierte Myeloblasten.

14) S.G. 12w. Zweites, nicht Überlebtes, Rezidiv einer AML. Bei der stationären Aufnahme wurden folgende Befunde erhoben: Deutlich reduzierter AZ, 40°C Fieber, Hautblutungen und Petechien, Hb 5,9g%, 4000 Leukozyten, davon 95% myeloische Platten, 6000 Thrombozyten. Zur Zeit der Untersuchung keine Therapie. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden sich 93 granulierte und 7 ungranulierte Myeloblasten. Bei Färbung nach Entfettung sind alle Zellen ungranuliert.

15) H.F. 8m. In diesem Jahr diagnostizierte AML. Zur Zeit der Untersuchung keine Therapie. Dem Kind geht es gut, Hb 9,4 g%, 53000 Thrombozyten, 4400 Leukozyten, davon 70% blastöse Zellen. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden sich 96 granulierte und 4 ungranulierte Myeloblasten. Bei Färbung nach Entfettung zeigen die Zellen nur ganz vereinzelt Granula.

16) E.G. 14w. AML - Rezidiv. Zur Zeit keine Therapie; der Allgemeinzustand des Kindes ist deutlich reduziert, 7,8 g% Hb, 28000 Thrombozyten, 63000 Leukozyten, fast ausschließlich blastöse Zellen. Das Kind verstarb einige Tage nach der hier durchgeführten Untersuchung. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden sich 98 granulierte und 2 ungranulierte Myeloblasten. Bei Färbung nach Entfettung sind alle Zellen ungranuliert.

Beurteilung von Blutbildern bei akuter lymphatischer Leukämie (ALL)

Auch hier gleicht das Aussehen der Blasten grundsätzlich dem der unter 2.1. beschriebenen Zellen. Von fünf Patienten stand Blut zur Beurteilung zur Verfügung, bei dreien wurden auch Knochenmarksausstriche angefertigt:

17) D.J. 2m. Vollremission einer ALL. Zur Zeit der Untersuchung keine Therapie, bei dem Kind finden sich neben unauffälligen klinischen Befunden: Hb 12,9 g%, 4500 Leukozyten bei unauffälligem Diff - BB. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden

sich ausschließlich granulierte mononukleäre Zellen. Im Knochenmarkausstrich sind alle mononukleären Zellen ungranuliert.

18) K.D. 8m. ALL - Rezidiv. Bei der stationären Aufnahme wurde ein reduzierter Allgemeinzustand, Blässe, multiple Hämatome und petechiale Blutungen sowie eine Hepato- und Splenomegalie festgestellt. Hb 7,2 g%, 5200 Leukozyten, davon 80% atypische Zellen. Zur Zeit der Untersuchung seit einigen Tagen Behandlung mit Steroiden. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden sich 8 ungranulierte und 92 granulierte mononukleäre Zellen. Im Knochenmarkausstrich sind 52% der mononukleären Zellen ungranuliert.

19) U.K. 2w. ALL in Remission. Dem Kind geht es gut, Hb 12 g%, 1150 Leukozyten und unauffälliges Diff - BB. Zur Zeit der Untersuchung Therapie mit Puri - Nethol und Methotrexat. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden sich 21 ungranulierte und 79 granulierte mononukleäre Zellen. Im Knochenmarkausstrich sind 100% der mononukleären Zellen ungranuliert.

20) S.B. 4 Mon. w. Im ersten Lebensmonat diagnostizierte ALL. Jetzt Rezidiv, bei der stationären Aufnahme finden sich im Diff - BB 89% Blasten und 37000 Thrombozyten. Zur Zeit der Untersuchung keine Therapie. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden sich 67 ungranulierte und 33 granulierte mononukleäre Zellen. Im Knochenmarkausstrich sind 98% der Mononukleären ungranuliert.

21) W.J. 7m. Seit zwei Jahren anhaltende Remission einer ALL. Dem Kind geht es gut, Hb 13,4 g%, 2800 Leukozyten bei unauffälligem Diff - BB, 180 000 Thrombozyten. Zur Zeit der Untersuchung keine Therapie. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden sich 95 granulierten und 5 ungranulierten mononukleären Zellen.

Beurteilung von Blutbildern bei akuter Leukämie (AL)

Zwei undifferenzierte Leukosen konnten untersucht werden, wobei sich im zweiten Fall die AL aus der unter 13) beschriebenen AML entwickelte. Hier die beiden Fälle:

22) F.J. 6m. In diesem Jahr diagnostizierte AL. Zur Zeit der Untersuchung keine Therapie. Der Patient verstarb eine Woche nach der Untersuchung. Im PIC-gefärbten Ausstrich finden sich 95 granulierten und 5 ungranulierten mononukleären Zellen.

23) F.W. 17m. Der selbe Patient wie Fall 13, jetzt im entdifferenzierten Stadium, Behandlung mit ET-18-OCH₃. Im PIC-gefärbten Ausstrich sieht man jetzt neben 6 Granulozyten 72 granulierten und 22 ungranulierten blastösen Zellen. Im Ausstrich nach Entfettung sind nahezu alle Zellen ungranuliert.

Beurteilung von Blutbildern bei Non-Hodgkin-Lymphomen/
Immunozytom

Blut von drei Patienten konnte untersucht werden, hier die
Beschreibung im Einzelnen:

24) 74m. Seit 8 Jahren ist bei diesem Patienten ein lymphoplasmazytoides Lymphom (Immunozytom) bekannt. Der Patient wurde mit insgesamt 10 Zyklen nach dem COPP - Schema behandelt und erhält und erhält jetzt alle 14 Tage Leukeran und Ultralan. Im Blut finden sich bei 23100 Leukozyten 11 Segmentkernige, 1 Monozyt, 2 Eosinophile, 86 Lymphozyten. Im PIC-gefärbten Ausstrich sind 99% der mononukleären Zellen granuliert.

25) F.U. 41m. Seit einem Jahr ist bei diesem Patienten ein zentrozytisches Lymphom bekannt. Zur Zeit wird der Patient mit Endoxan, Vincristin und Natulen behandelt. Im peripheren Blut werden 6400 Leukozyten gezählt. Im PIC-gefärbten Ausstrich waren 97% der mononukleären Zellen granuliert.

26) K.F. 71w. Seit zwei Jahren ist bei dieser Patientin ein lymphoplasmazytoides Lymphom bekannt. Bei 59000 Leukozyten im peripheren Blut erhält die Patientin Velbe. Im PIC-gefärbten Ausstrich sind 97% der mononukleären Zellen granuliert. Bei Färbung nach Entfettung zeigen nun viel blastöse Zellen eine auffällige Veränderung: Im Gegensatz zu den oben beschriebenen mononukleären Zellen bieten diese Zellen jetzt eine deutliche Granulierung, die sich von der im nicht entfetteten Ausstrich unterscheidet.

Beurteilung von Blut bei Osteomyelose (OMS)

27) Z.R. 41m. Seit zwei Jahren ist bei diesem Patienten eine OMS bekannt. Als Therapie erhält der Patient zur Zeit Myle-
ran. Von 27000 Leukozyten sind: 20 Segmentkernige, 14 Stab-
kernige, 21 Metamyelozyten, 14 Myelozyten, 8 Promyelozyten,
2 Myeloblasten, 1 Eosinophiler, 5 Erythroblasten und 15 Lym-
phozyten. Im FIC-gefärbten Ausstrich keine Besonderheit. Bei
Färbung nach Entfettung sind Granulozyten und ihre Vorstufen
granuliert.

Bei den hier untersuchten Patienten mit leukämischen Erkrankungen hingegen zeigt sich ein sehr uneinheitliches Bild bezüglich der Granulierung der mononukleären Zellen. (Tabelle 2).

Vergleicht man bei den chronisch lymphatischen Leukämien die Pat. Nr.2 und Pat. Nr.5, diesich beide zur Zeit der Untersuchung in ambulanter Kontrolle ohne Therapie befanden, so bietet der Blutausstrich des Pat. Nr.2 99%, der des Pat. Nr.5 0% granulierten mononukleäre Zellen. Das färberische Verhalten dieser Zellen korreliert nicht mit dem Befund klinischen Wohlbefindens beider Patienten, sie unterscheiden sich allerdings in der Dauer ihrer Erkrankung: bei Pat. Nr.2 ist die Krankheit seit 12 Jahren bekannt, bei Pat. Nr.5 seit einem Jahr. Vergleicht man hierzu Pat. Nr.2 mit Pat. Nr.3, dessen CLL ebenfalls seit 12 Jahren bekannt ist und bei dem sich 62% granulierten mononukleäre Zellen finden, so ergibt sich keine Korrelation zur Dauer der Erkrankung. Bemerkenswert ist allerdings, daß bei den Pat. Nr.5 und Pat. Nr.6, bei denen eine Splenektomie bzw. eine Milzbestrahlung durchgeführt wurde, im Blutausstrich keine granulierten mononukleären Zellen zu sehen sind. Jedoch korreliert das klinische Befinden der beiden Patienten nicht mit dem Ergebnis der Färbung: Während Pat. Nr.5 nicht therapiebedürftig war und ambulant betreut wurde, verstarb Pat. Nr.6 während seines Klinikaufenthaltes wenige Tage nach der hier durchgeführten Untersuchung. Bei dem hier untersuchten Kollektiv läßt sich also keine Korrelation zwischen klinischem Schweregrad und Dauer der Erkrankung zum färberischen Verhalten der mononukleären Zellen herstellen.

Fünf Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie konnten untersucht werden: hierbei ergibt sich ein Prozentsatz der granulierten mononukleären Zellen von 33% - 100%. Sowohl bei Pat. Nr.17 als auch bei Pat. Nr.21, die sich beide in einer Remission der Erkrankung befanden, finden sich 100% bzw. 95% granulierten mononukleären Zellen. Bei Pat. Nr.20, bei dem die Untersuchung zu Anfang des Rezidivs durchgeführt wurde, lassen sich 33% granulierten mononukleären Zellen zählen. Ebenfalls im Rezidiv befindet sich Pat. Nr.18, hier sind 92% der mononukleären Zellen granuliert. Dieser Patient erhielt allerdings seit einigen Tagen Steroide. Pat. Nr.19 bekam zur Behandlung Antimetabolite, hier finden sich 79% granulierten mononukleären Zellen, die Krankheit befindet sich in einer Remission. Es ergibt sich also eine Korrelation zwischen dem Befund von 100%, 95% und 79% granulierter mononukleärer Zellen und der Diagnose Remission. Bei Pat. Nr.18 scheint der Befund von 92% granulierten mononukleären Zellen eher Ausdruck der Gabe von Steroiden zu sein, zumal sich bei dem ebenfalls in einem Rezidiv befindlichen Pat. Nr.20 lediglich 33% granulierten mononukleären Zellen zählen lassen. Bei den Pat. Nr.17, 18, 19 wurden auch noch Knochenmarksausstriche angefertigt. Bei Pat. Nr.17 und Pat. Nr.19 konnten hierbei 0% granulierten mononukleären Zellen gefunden werden, anders bei Pat. Nr.18 mit 52% granulierten mononukleären Zellen, dieser Patient erhielt Steroide.

Bei der Untersuchung von Non-Hodgkin-Lymphomen mit niedrigem Malignitätsgrad zeigt sich ein recht einheitliches Bild: bei allen drei Patienten finden sich mindestens 97% granulierten

mononukleäre Zellen. Hierbei stellt sich die Frage, ob es sich in den peripheren Blutausstrichen um unreife Zellen oder um normale mononukleäre Zellen handelt. Außerdem erhielten alle drei Patienten Zytostatika, woraus keine Aussage über deren Dignität gemacht werden kann.

Bei den chronischen myeloischen Leukämien gleichen die färberischen Eigenschaften der differenzierten Zellen und der Vorstufen bis einschließlich der Promyelozyten denen der Zellen bei gesunden Personen. Lediglich das Verhalten der als Myeloblasten identifizierten Zellen weicht von dem des gesunden Kollektivs ab: Bei Pat. Nr.8 sind bei einem Verhältnis von 1 granuliertem zu 7 ungranulierten Blasten 13% granuliert, bei Pat. Nr.10 bei einem Verhältnis von 6/4 60%, bei Pat. Nr.11 bei einem Verhältnis von 1/0 100%. Alle drei Patienten bekamen keine Medikamente zur Zeit der Untersuchung, der Anteil der Promyelozyten und Blasten an der Gesamtzahl der Leukozyten liegt bei allen drei Patienten zwischen 12% und 16%. Auch zum Anteil der reifen Zellen im Blutaussstrich läßt sich keine Korrelation herstellen: Bei Pat. Nr.8 lassen sich 26%, bei Pat. Nr.10 20%, bei Pat. Nr.11 35% segmentkernige Granulozyten zählen.

Bei den vier Fällen von akuter myeloischer Leukämie kann bei drei Patienten ohne Therapie 75%, 100%, 100% granuläre Myeloblasten nachweisen, bei Pat. Nr.17 mit zytostatischer Therapie 75%. Aus diesem einen Fall läßt sich jedoch keine Korrelation zwischen der Anzahl granulierter Blasten und Therapieerfolg herleiten. Vergleicht man die Pat. Nr.16 und Pat. Nr.18, die sich zur Zeit der Untersuchung im Stadium ihrer Erkrankung

ten mit Pat. Nr.15, dem es klinisch recht gut ging, so findet man eine völlige Wiederherstellung der Granulozyten mit einem Zentsatz der granulierten Myeloblasten. Zieht man zur Beurteilung der myelopoetischen Funktion die Färbung nach Eosinophilie heran, so ergeben sich für akute und chronische Leukosen unterschiedliche Befunde: im Fall Nr.12 einer CML sind die Granulozyten und ihre Vorstufen sämtlich granuliert, im Fall Nr.14, 15, 16 einer akuten Leukose lassen sich zweimal keine, einmal nur ganz vereinzelt granulierte Zellen nachweisen. Dieses ist möglicherweise Ausdruck einer von anderen Faktoren abhängigen Reife der Zelle; auch wäre diese Erscheinung durch anhaftende Immunkomplexe erklärbar. Leider wurde bei Patienten mit CML nur ein Blutstrich nach Eosinophilie angefertigt, so daß weitere Untersuchungen lohnenswert erscheinen.

3.2. Zusammenfassung

Bei den untersuchten Patienten mit akut lymphatischem und akut lymphatischen Leukämien läßt sich keine Korrelation zwischen Anzahl der granulierten mononukleären Zellen und klinischer sowie laboratorischer Befunde finden. Bei akuten lymphatischen Leukämien wurden bei zwei Patienten in Knochenmarksmaterialien nur ausschließlich ungranulierte mononukleäre Zellen gefunden.

Diese Befunde legen den Schluß nahe, daß der Verlust der Granulierung der mononukleären Zellen ohne Bedeutung wäre.

Literaturverzeichnis

- 1) Bean R.H.D. : Phenylbutazon and Leukaemia. A possible Assoziation. Brit. med. J. 2 (1960), 1552-1555
- 2) Begemann H. : Klinische Hämatologie, 2. Aufl., Stuttgart 1975.
- 3) Bona C. , Anteunis A. : Structure of the Lymphocyte Membrane. Ann. Immunol. 124 (1973), 321-344
- 4) Garret J.V. : Phenylbutazon and Leukaemia. Brit. med. J. 1 (1961), 53
- 5) Gschwind K. : Zur Struktur von Pseudoisocyanin - Aggregaten. Diss. TU München 1974.
- 6) Gottfried E.L. : Lipids in Human Leucozytes. J. Lipid Res. 12 (1971) 531-537.
- 7) Jensen M.K., Roll K. : Phenylbutazon and Leukaemia. Acta med. scand. 178 (1965) 505-513.
- 8) Schöberl H. : Färbeverhalten mit Pseudoisocyaninchlorid von Leukozyten bei Normalpersonen und Patienten mit leukämischen Erkrankungen. Diss. Univ. München 1982.

- 9) Suschke J. : Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis saurer
Mukopolisaccharide in menschlichen Blut- und Knochenmarks-
zellen. Klin. Wschr. 54 (1976) 289-290.

Herrn Prof. Dr. H.J. Suschke gilt mein aufrichtiger Dank für die Überlassung des Themas und die stets gewährte Unterstützung und Beratung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Spiess danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Herrn Prof. Dr. Rastetter danke ich für die Genehmigung am Institut für Klinische Hämatologie der TU München einen Teil dieser Arbeit durchführen zu können.

Herrn Prof. Dr. Fink danke ich für die Bereitstellung der bei dieser Arbeit untersuchten Blutproben.

Für wertvolle Hilfe bei der Beschaffung der Blutproben danke ich Frau Korte.

LEBENS LAUF

Geboren am 25.7.1954 in Paderborn als dritter Sohn der Eheleute Heinz und Carla Rüter.

Einschulung 1961 in Paderborn, ab 1965 Besuch des mathematisch-naturwissenschaftlichen Reismann-Gymnasiums in Paderborn, 1973 Abschluß der Schulzeit mit dem Zeugnis der Reife.

Einberufung zum Wehrdienst 1973, Entlassung nach zwei Jahren als Leutnant.

Gasthörer/Medizin für zwei Semester an der Phillips-Universität in Marburg.

Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Technischen Universität München 1977, Ablegen des 3. Teils des Staatsexamens im Oktober 1983. Die dieser Dissertation zugrundeliegenden Arbeiten nahm ich im Mai 1981 auf.

